

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 7月11日

出願番号

Application Number:

特願2002-202381

[ST.10/C]:

[JP2002-202381]

出願人

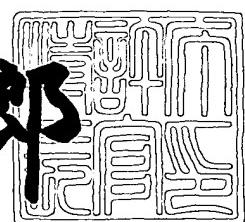
Applicant(s):

日清紡績株式会社

2003年 6月 3日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3043207

【書類名】 特許願

【整理番号】 P-B0010

【提出日】 平成14年 7月11日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/50

【発明の名称】 マイクロアレイ用基材

【請求項の数】 7

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市緑区大野台1-2-3 日清紡績株式会社
研究開発センター内

【氏名】 五十部 雅昭

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市緑区大野台1-2-3 日清紡績株式会社
研究開発センター内

【氏名】 荘司 友聰

【特許出願人】

【識別番号】 000004374

【氏名又は名称】 日清紡績株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089244

【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【連絡先】 03-3669-6571

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マイクロアレイ用基材

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体試料の検出に用いられるマイクロアレイ用基材において

生体試料を複数箇所に固定できる平面状の底部及びこの底部の周縁に立設する壁部を少なくとも有する容器状の試料固定部と、

前記底部が水平になるように前記試料固定部を所定の高さに支持する支持部とを有することを特徴とするマイクロアレイ用基材。

【請求項2】 前記試料固定部は平板に形成された窪みであり、前記支持部は前記平板の周縁から下方に延出する周壁であり、前記平板が前記周壁の上縁で支持されていることを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイ用基材。

【請求項3】 複数の前記マイクロアレイ用基材を上下に重ねたときに前記マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方をマイクロアレイ用基材の上部に有することを特徴とする請求項1又は2に記載のマイクロアレイ用基材。

【請求項4】 前記試料固定部及び前記支持部を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結されて構成されることを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載のマイクロアレイ用基材。

【請求項5】 隣り合う前記ユニットとの間に、一のユニットの試料固定部と他のユニットの試料固定部との間での通液を遮断する溝を有することを特徴とする請求項4記載のマイクロアレイ用基材。

【請求項6】 前記マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を頂部に有する固定台に、前記凸部及び凹部のいずれか一方又は両方にマイクロアレイ用基材の下部が嵌ることにより固定されることを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載のマイクロアレイ用基材。

【請求項7】 前記固定台は、複数のマイクロアレイ用基材を水平方向に配置可能に前記凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を複数有することを特徴とする請求項6記載のマイクロアレイ用基材。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、特異的な反応を利用して生体物質を検出する際に用いられるマイクロアレイ用基材に関する。

【0002】

【従来の技術】

DNAやたんぱく質等の生体物質の同定や検出には、生体物質が複数箇所に点着され固定されたマイクロアレイが用いられる。このようなマイクロアレイには、顕微鏡観察等に一般に用いられているスライドガラスがマイクロアレイ用基材として一般に用いられている。

【0003】

マイクロアレイを用いる生体物質の検出では、マイクロアレイの作製から生体物質の検出まで様々な作業が行われる。マイクロアレイの作製から生体物質の検出までの作業について以下に説明する。

【0004】

まずマイクロアレイ用基材であるスライドガラスの表面にDNA等の生体物質を含む試料溶液を点着する。点着方法としては、ピン式等の接触式や、インクジエット等の非接触式が挙げられる。次いで生体物質を基材表面に固定し、過剰に付着した生体物質を洗浄により除去する。この洗浄は、洗浄用の溶液に基材を浸して振とうすることによって一般に行われる。

【0005】

次いで固定した生体物質に対して他方の生体物質である対象物質を基材表面に展開する。この展開は、対象物質が少量しかない場合でも基材表面に固定した生体物質と十分に接触するように、カバーフィルム等を被せることによって一般に行われ、基材とフィルムとの薄い間隙に対象物質を含む溶液を十分に広げる。

【0006】

次いで基材表面に固定した生体物質と、基材表面に展開した対象物質とを反応させる。この反応は、恒温槽に数時間静置することによって一般に行われ、例え

ば基材表面に固定したDNAとPCR産物とのハイブリダイゼーション反応では37～45℃の穏やかな条件下で行われる。

【0007】

次いで反応しなかった対象物質や過剰に展開した対象物質を洗浄して除去する。この洗浄も前述したように洗浄用の溶液中で基材を振とうすることにより行われる。

【0008】

次いで基材表面に固定した生体物質と対象物質との反応生成物の有無を検出する。反応生成物の検出には、予め対象物質に蛍光標識等の標識化合物によって標識しておきこれを検出する方法や、対象物質又は反応生成物と特異的に反応する識別可能な試薬をさらに反応させこの反応生成物を検出する方法が採用される。例えばDNAを基材表面に固定しPCR産物を展開した場合で、蛍光標識されたPCR産物を用いた場合ではこのまま蛍光スキャナ等の検出装置で検出する。蛍光標識されていないPCR産物を用いる場合では発色試薬等との反応を行い、発色の有無によって検出するが、このような場合では数回の洗浄作業が行われる。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

前述したマイクロアレイを用いる生体物質の検出は、複数の生体物質を同時に反応させることができ、複数種類の生体物質を同時に検査する上で優れているが、作業上の様々な問題点を有する。

【0010】

例えば、マイクロアレイ用基材としてスライドガラスが一般に用いられるが、スライドガラスは厚さが1mm程度と薄く、取り扱いが困難である。またスライドガラスは平板であることから、スライドガラスが傾くと、展開しようとする対象物質の溶液が損なわれてしまう。

【0011】

また、スライドガラスの大きさは規格化されており、固定しようとする生体物質の種類が少ない場合では、表面の大部分が無駄になってしまう。

【0012】

また、対象物質の展開ではカバーフィルムを被せて対象物質溶液を基材表面に展開させるが、カバーフィルムを被せる際に気泡が混入し、反応が正しく進行しない場合がある。

【0013】

また、生体物質の検出では必要に応じて基材の洗浄作業が行われるが、この洗浄作業は洗浄液に基材を浸して振とうさせることから、スライドガラスのような平板の基材を用いた場合には、生体物質を固定した表面同士がこすれ合うことがあり、検出結果に悪影響を及ぼすことがある。

【0014】

また、マイクロアレイ用基材としてスライドガラスを用いる場合には、例えば対象物質の展開時におけるフィルムの被覆等、人の手による作業が不可欠であり、また作業を正確に行うためには相当の熟練を要する。したがって、マイクロアレイを用いる生体物質の検出のさらなる利用の拡大や、その際の検出精度の維持が困難である。

【0015】

本発明は、マイクロアレイを用いる生体物質の検出に関する一連の作業を容易に行うことができ、かつ正確な検出結果が得られるマイクロアレイ用基材を提供することを第一の課題とする。

【0016】

また本発明は、生体物質の検出に関する一連の作業の自動化に適用可能なマイクロアレイ用基材を提供することを第二の課題とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】

本発明は少なくとも前記第一の課題を解決するための手段として、以下に示すマイクロアレイ用基材を提供する。

【0018】

すなわち本発明のマイクロアレイ用基材は、生体試料の検出に用いられるマイクロアレイ用基材において、生体試料を複数箇所に固定できる平面状の底部及びこの底部の周縁に立設する壁部を少なくとも有する容器状の試料固定部と、底部

が水平になるように試料固定部を所定の高さに支持する支持部とを有する。

【0019】

前記構成によれば、生体試料が固定される試料固定部は容器状であることから、カバーフィルムを被せなくても傾けるだけで対象物質溶液を展開させることができあり、かつその際に対象物質溶液がこぼれて損なわれるおそれがない。また底部の周縁に立設する壁部によってマイクロアレイ用基材の上部と前記底部との間に間隔が設けられることから、洗浄作業時において生体試料を固定した基材表面がこすれ合うことがない。したがって正確な検出結果を得ることが可能である。

【0020】

また前記構成によれば、試料固定部が支持部によって所定の高さに支持されていることから、スライドガラスのような平板のマイクロアレイ用基材に比べて容易に挟持することができ、生体物質の検出に関する一連の作業を容易に行うこと が可能である。

【0021】

また本発明では、試料固定部は平板に形成された窪みであり、支持部は平板の周縁から下方に延出する周壁であり、平板が周壁の上縁で支持されていると、マイクロアレイ用基材の取り扱いがより一層容易であることから、正確な検出結果を得る上で、また一連の作業を容易に行う上でより好ましい。

【0022】

また本発明では、複数のマイクロアレイ用基材を上下に重ねたときにマクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方をマイクロアレイ用基材の上部に有すると、マイクロアレイ用基材を上下方向に重ねて固定することが可能となり、マイクロアレイ用基材の搬送や保管、及び検出結果の保存を行う上でより好ましい。

【0023】

また本発明では、試料固定部及び支持部を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結されて構成されると、マイクロタイタープレートと同じ大きさの連結体を構成することが可能となり、マイクロタイタ一

プレート用の自動分注装置への適用が可能となる。したがって、自動分注装置による生体物質の点着、ロボットアームによる自動搬送及び各種作業の自動化が可能となり、一連の作業の自動化に適用することが可能となる。

【0024】

また本発明では、隣り合うユニットにおいて、各ユニットにおける試料固定部の間に溝を有すると、一のユニットの試料固定部と他のユニットの試料固定部との間の通液が遮断されることから、ユニット相互間における試料溶液の混合が防止され、一連の作業の自動化に適用し、かつ正確な検出結果を得る上でより好ましい。

【0025】

また本発明では、マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を頂部に有する固定台に、凸部及び凹部のいずれか一方又は両方にマイクロアレイ用基材の下部が嵌ることにより固定されると、マイクロアレイ用基材の高さにおいて、固定台と支持部とによって所定の高さに試料固定部が支持されれば良いことから、ユニットをより小型化することが可能となり、検出結果の保存等でマイクロアレイ用基材を保管する上でより一層好ましい。

【0026】

また本発明では、固定台は、複数のマイクロアレイ用基材を水平方向に配置可能に凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を複数有すると、マイクロタイタープレートの大きさに対応させて固定台を形成することにより、前述した各種作業の自動化に適用することが可能となる。また固定台上の任意の位置に任意数のマイクロアレイ用基材を固定することが可能であることから、必要な数のマイクロアレイ用基材ユニットを検出機会ごとに固定すれば良い。したがって、検体数や検出目的等の諸事情に合わせて前述した一連の作業の自動化に適用する上で好ましい。

【0027】

前記試料固定部は、生体試料を複数箇所に固定できる平面状の底部及びこの底部の周縁に立設する壁部を少なくとも有する。試料固定部は、底部となる平板の一部を突条で囲むことにより形成されるものであっても良いし、平面状の底部を

有するように平板の一部を窪ませて形成されるものであっても良い。

【0028】

前記底部は、平面状であり、生体試料を複数箇所に固定するのに十分な面積を有するものであれば特に限定されない。また底部の形状も特に限定されず、円形や矩形、ひょうたん型など様々な形状を採用することができる。また前記壁部は、底部に生体試料を固定することができる高さの壁を形成するものであれば特に限定されない。このような底部及び壁部で形成される試料固定部は、底部の面積、生体試料のスポットの大きさ、固定するスポットの数や配置、生体試料の点着方法、反応用の試薬の使用量等によって異なるが、数マイクロリットルから数百マイクロリットルの容量を有することが、生体試料の検出に用いる上で好ましい。

【0029】

前記支持部は、底部が水平になるように試料固定部を所定の高さに支持する構成であれば特に限定されない。ここで「所定の高さ」とは、本発明のマイクロアレイ用基材を挟持するのに十分な高さであり、マイクロアレイ用基材を挟持しようととするものによって異なる。例えば人の手によって本発明のマイクロアレイ用基材を挟持しようとする場合では、従来のスライドガラスの厚さ程度であっても十分だが、作業の容易さや正確性を期す観点から5mm以上であることが好ましい。また例えばマイクロタイタープレート用の自動検出装置によって各種作業を行う場合等のようにロボットアームによってマイクロアレイ用基材を挟持しようとする場合では、マイクロタイタープレートの規格やロボットアームの性能等の観点から12~45mmであることが好ましい。

【0030】

前記凸部及び凹部のいずれか一方又は両方は、複数のマイクロアレイ用基材を上下に重ねたときに、マイクロアレイ用基材の下部に嵌り、マイクロアレイ用基材を重ねた状態で固定できる構成であれば、その形状や個数は特に限定されない。

【0031】

前記連結部は、試料固定部及び支持部を1ユニットとしたときに、複数のユニ

ットを水平方向に連結する構成であればその形態は特に限定されない。連結部は、一体成形品における連結部分のように着脱できない構成であっても良いし、摺動や嵌合によって着脱自在な二つの部材による構成であっても良い。また連結部は、ユニットに対して一体化していても良いし、別体であっても良い。

【0032】

前記溝は、隣り合うユニットとの間に、試料固定部の相互間での通液を遮断する構成であれば特に限定されず、例えばユニットの連結によって形成される構成であっても良いし、各ユニットに形成されている構成であっても良い。ユニットの連結によって形成される構成としては、例えばユニットを連結したときに連結部がスペーサとなって形成される隙間や、ユニットの頂縁を切り欠き、ユニットを連結したときにユニットの表面に形成されるV字溝やU字溝等が挙げられる。

【0033】

なお本発明では、水平方向に連結されている複数のユニットにおける試料固定部の底部がユニット相互間において同じ高さとなるように複数のユニットが連結されると、生体物質の検出作業の自動化に適用する上で好ましい。

【0034】

前記固定台は、前記マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を頂部に有する構成であれば特に限定されない。

【0035】

本発明では、連結部を介してユニットを連結する場合では、ユニットの連結体がマイクロタイタープレートと同じ大きさになることが、生体物質の検出作業の自動化に適用する上で好ましい。また本発明では、水平方向に複数のマイクロアレイ用基材を固定している前記固定台と、これに固定されている全マイクロアレイ基材との全体が、マイクロタイタープレートと同じ大きさになることが、生体物質の検出作業の自動化に適用する上で好ましい。

【0036】

また本発明のマイクロアレイ用基材は、識別可能な文字及び図形のいずれか一方又は両方を表面に有すると、誤操作の防止や検出結果の正確な保存等の観点から好ましい。

【0037】

また本発明のマイクロアレイ用基材は、少なくとも試料固定部の底部が生体物質を固定できれば、用いられる材料について特に限定されない。このような材料には、例えばガラス、プラスチック、金属、及びセラミック等が挙げられ、これらの材料の一種又は二種以上を用いることができる。生体物質の固定に不適当な材料であっても、例えばカルボジイミド樹脂等の樹脂化合物を表面にコーティングすることにより好適に用いることができる。本発明では、生体試料の固定や成形の容易さ等の観点からプラスチックで構成することが好ましい。

【0038】

本発明のマイクロアレイ用基材は、生体物質の検出に用いられる。さらに本発明のマイクロアレイ用基材は、例えば試料固定部の底部に予め所定の生体物質をスポットするなど、所定の生体物質とセットにし、さらに前述した文字や図形によって、例えば固定されている生体物質の種類や特定の部位、スポットの大きさ、個数や配置等の情報を表示するなどして、生体物質検査用のキットとして利用することも可能である。

【0039】

【発明の実施の形態】

以下、本発明のマイクロアレイ用基材についてより具体的に説明する。なお、以下の実施の形態は本発明の一例を示すものであり、本発明はこれらの実施の形態によって何ら限定されるものではない。

【0040】

<第一の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図1及び図2に示すように、容器状の試料固定部1と、試料固定部1を所定の高さ（例えば15mm程度）に支持する支持部2とを有する。

【0041】

試料固定部1は、正方形の平板に形成された円筒状の窪みであり、円形平面状の底部1a及びこの底部1aの周縁に立設する壁部1bを有する。試料固定部1の容積は数百マイクロリットルである。底部1aは生体試料を複数箇所に固定す

るのに十分な面積に形成され、壁部1bは生体試料の固定を妨げずかつ溶液を収容できる高さ（例えば1mm程度）の円筒状の壁を形成している。

【0042】

支持部2は、前記平板の周縁から下方に延出する周壁であり、正方形の平板の各辺のそれぞれから平面状の壁が下方に延出して形成される四角柱状の周壁である。支持部2は、前記平板を上縁で、かつ底部1aが水平になるように試料固定部1を支持している。

【0043】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、例えばアクリル樹脂等のプラスチックの一体成形品である。

【0044】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、試料固定部1が底部1a及び壁部1bによって底浅な円筒容器状に形成されていることから、底部1aの複数箇所に生体物質を固定することができ、固定した生体物質に溶液を接触させる場合等において、基材表面から溶液がこぼれ落ちることを防止することができる。

【0045】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、所定の高さの周壁によって支持部2が形成されていることから、マイクロアレイ用基材を容易に挟持することができる。したがって容易に取り扱うことができ、生体物質の検出における各種作業をより正確かつ容易に行うことができる。

【0046】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、従来のスライドガラス一枚分に相当する。試料固定部1の容量が数百マイクロリットルであることから分かるように、図示されている前記平板の面積は、スライドガラスの半分から3分の1程度である。したがってより小型のマイクロアレイ用基材を提供することができる。

【0047】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、生体物質が固定される底部1aが、マイクロアレイ用基材の上部（本実施の形態では前記平板の表面）よ

りも窪んだ位置にあることから、生体物質の検出作業における洗浄作業や検出後の保管時等において底部1aの表面がこすられにくく、より正確な検出結果を得ることができると共にその検出結果を長期にわたって保存することができる。

【0048】

なお本実施の形態では、円筒容器状の試料固定部1を示したが、試料固定部1の形状はこれに限定されず、開口部から底部に向けて漸次断面積が減少する形状であっても良い。このような形状の試料固定部1を有するマイクロアレイ用基材としては、図3に示すように、開口部から底部に向けて直線的に断面積が漸次減少する形状の試料固定部1を有するマイクロアレイ用基材や、図4に示すように、開口部から底部に向けて椀のように曲線的に断面積が減少する形状の試料固定部1を有するマイクロアレイ用基材が挙げられる。これらのマイクロアレイ用基材は、試料固定部1から溶液を廃棄する際の液切れを良くする上で好ましい形態である。

【0049】

<第二の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図5に示すように、複数のマイクロアレイ用基材を上下に重ねたときにマイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部をマイクロアレイ用基材の上部に有する以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0050】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、四つの凸部1cを有する。凸部1cは、前記平板の四隅付近のそれぞれに一つずつ配置されている。凸部1cは、前記平板の角部を挟む各辺のそれぞれから支持部2の厚さの分だけ、平板の角部から内側に配置されており、マイクロアレイ用基材を上下に重ねたときに、支持部2下部の内周縁にこの内周縁の四隅で内嵌する。

【0051】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、上下に重ねたときに互いに固定されることから、下側のマイクロアレイ用基材の試料固定部1は、上側のマイクロアレイ用基材によって非接触で覆われる。したがって、底部1aに対して非

接触の状態でマイクロアレイ用基材を保存することができるので、生体物質の検出結果の保存に好適である。

【0052】

なお本実施の形態では、凸部1cが支持部2の下部内周縁の四隅のそれぞれに内嵌する構成を示したが、凸部1cの数は特に限定されず、凸部1cは、支持部2の下部内周縁の四隅のうちの対向する二つに内嵌するように、前記平板の対角線上に二つだけ配置しても良い。また同様に凸部1cの配置数は三であっても良い。

【0053】

また本実施の形態では、凸部1cを前記平板の四隅近傍に配置したが、凸部1cの配置は特に限定されず、凸部1cは、支持部2の下部内周縁に内嵌するように、平板の各辺の中央付近に配置しても良い。また凸部1cは、適当な位置に配置される適当な形状の突条であっても良い。

【0054】

＜第三の実施の形態＞

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図6に示すように、複数のマイクロアレイ用基材を上下に重ねたときにマイクロアレイ用基材の下部が嵌る凹部をマイクロアレイ用基材の上部に有する以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0055】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記平板の周縁に切り欠き部1dを有する。切り欠き部1dは、例えば前記平板の四辺から支持部2の厚さの幅及び深さで切り欠いた段差を形成しており、マイクロアレイ用基材を上下に重ねたときに、支持部2下部の内周縁に、切り欠き部1dに囲まれた前記平板の部分が内嵌する。本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材も、前記第二の実施の形態と同様に、底部1aに対して非接触の状態でマイクロアレイ用基材を保存することができる。

【0056】

＜第四の実施の形態＞

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図7に示すように、断面形状が矩形の突条1eによって試料固定部1が形成されている以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0057】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、円を形成する突条1eを前記平板上に有する。突条1eに囲まれた平板の面は底部1aであり、突条1eの内周壁は壁部1bである。突条1eは、その外径が前記平板の対向する二辺間の距離から支持部2である周壁の厚さ二枚分を引いた長さとなる円を形成している。このマイクロアレイ用基材を上下に重ねると、支持部2下部の内周縁に突条1eの外周が内嵌する。

【0058】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、突条1eで試料固定部1が形成されていることから、突条1e外側の前記平板にこぼれた溶液が試料固定部1へ流入することを防止することができる。また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記第二及び第三の実施の形態と同様に、底部1aに対して非接触の状態でマイクロアレイ用基材を保存することができる。

【0059】

<第五の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図8及び図9に示すように、試料固定部1及び支持部2を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結自在に構成されている以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0060】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、支持部2の対向する二つの壁のそれぞれの外側に、摺動によって着脱自在に連結する第一の連結部材2aと第二の連結部材2bとを有する。

【0061】

第一の連結部材2a及び第二の連結部材2bは、支持部2の対向する二つの壁の外側に、それぞれ長手方向が水平方向となるように設けられている。第一の連

結部材2aは、その断面形状において支持部2側を基端としたときに、基端から先端に向けて断面が漸次減少する形状の溝を形成しており、第二の連結部材2bは、その断面形状において基端から先端に向けて断面が漸次拡大する形状の部材を形成している。第一の連結部材2a及び第二の連結部材2bは、長手方向に沿って互いを相対的に摺動させることにより、前記ユニットを水平方向に沿って着脱自在に連結する。

【0062】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記ユニットを水平方向に沿って所定の方向（本実施の形態では連結部材を対向して配置したので直線状）に連結自在であることから、適當数（例えば3）のユニットを連結してスライドガラスに相当する大きさの連結体を形成するなど、複数の試料固定部を有する適當な大きさや形状のマイクロアレイ用基材を形成することができる。したがって、マイクロアレイ用基材としてスライドガラスを用いていた際に使用していた生体物質検出用の装置や器具（例えば洗浄用の槽等）を以前と同様に利用することができる。

【0063】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、第一の連結部材2a及び第二の連結部材2bが前記ユニットの上部よりも下方に配置されていることから、連結したユニット間の上部には隙間が形成され、一方のユニットの試料固定部に供給した溶液が試料固定部からこぼれたとしても、連結する他方のユニットの試料固定部まで伝わることがなく、ユニット相互間におけるクロス kontaminationを防止することができる。

【0064】

また本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、複数のユニットを着脱自在に連結できることから、生体物質の検出時には連結し、その後には各ユニットに分解することができ、検出結果の保存を行う上で好適である。また一度分解したユニットを再度連結することができるので、検出結果の比較検討を行う上でも好適である。

【0065】

<第六の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図10及び図11に示すように、試料固定部1及び支持部2を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結自在に構成されている以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0066】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、支持部2の四面の壁のそれぞれの外側に、嵌合によって着脱自在に連結する四つの第三の連結部材2cを有する。第三の連結部材2cは、長手方向が水平方向となるように支持壁2に配置される本体と、この本体から突出する突起と、この突起が内嵌する穴とによって構成されている。第三の連結部材2cは、例えば試料固定部1に向かって右側には突起が、左側には穴が配置され、突起と穴との中点と、支持部2の一壁面の中心とが重なる位置関係になるように配置されている。

【0067】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、このような構成を有することから、二つのユニットを隣り合わせたときに、一方のユニットにおける前記突起と他方のユニットにおける前記穴とが対向し、これらが嵌合することによって、ユニットを水平方向に沿って面状にかつ着脱自在に連結することができる。したがって、適当数を連結することによって、マイクロタイタープレートと同じ大きさの連結体を形成することができ、マイクロタイタープレート用の自動分注装置を適用して、生体物質の検出の自動化に適用することができる。

【0068】

<第七の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図12及び図13に示すように、支持部2の一壁面ごとに二つずつの突起を有する以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0069】

支持部2に設けられる突起は、支持部2において対向する二つの壁面では同じ高さに設けられ、支持部2において隣接する二つの壁面では異なる高さに設けら

れている。なお同一壁面上にある二つの前記突起は、その壁の中心を通る縦軸線に対して線対称の位置関係にある。

【0070】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記突起が内嵌する複数対の孔を有する第四の連結部材2dによって連結することができる。この第四の連結部材2dは、前記突起と同間隔の二つの孔を一対としたときに複数対の孔を有しており、孔は、孔の対同士の間隔が、一つのユニットの幅と第四の連結部材2dの厚さとの和に等しい長さとなるように形成されている。

【0071】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記の構成により、前記ユニットとは別体の連結部材を用いて、水平方向に沿ってユニットを着脱自在に連結することができる。またマイクロアレイ用基材の上部には、隣り合うユニット相互間において第四の連結部材2dの厚さの幅の溝が形成されており、ユニット相互間におけるクロスコンタミネーションを防止することができる。またユニット側には、支持部2の各壁面において所定の位置に一対の突起を設けるだけで良いことから、形状が単純であり、容易に製造することができる。

【0072】

<第八の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、図14に示すように、試料固定部1及び支持部2を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結した形状の一体成形品である。ユニットは前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0073】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、縦に4ユニット、横に6ユニットの計24ユニットが水平方向に沿って面状に連結され、マイクロタイタープレートと同じ大きさに形成されている。各ユニットの相互間には、極薄の連結部が支持部2の高さ方向における中央付近に形成されている。

【0074】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、前記連結部を介して複数のユ

ニットが連結されていることから、連結部をスペーサとして各ユニット間には隙間が形成されるので、ユニット相互間におけるクロスコンタミネーションを防止することができる。また、前記連結部は極薄であることから、生体物質の検出後には折り曲げて連結部を破断し、生体物質の検出結果を各ユニットごとに保存することができる。

【0075】

<第九の実施の形態>

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部を頂部に有する固定台に、複数のマイクロアレイ用基材が固定される形態である。前記マイクロアレイ用基材は、固定台の高さに応じて支持部2の高さを短く調整した以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用基材と同様に構成されている。

【0076】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、複数のユニットを固定できる固定台3に固定されて使用される。固定台3は、図15に示すように、対向する二つの凸部を一対としたときに、24対の凸部を有し、縦に4対、横に6対が固定台3の頂部に形成されている。この固定台3の全ての対の凸部に前記マイクロアレイ用基材を固定すると、マイクロタイタープレートと同じ大きさのマイクロアレイ用基材が構成される。なお固定台3は、固定台3単独でもマイクロタイタープレート用の自動分注装置に利用されるロボットアームが挟持できる高さ（例えば5mm程度）とされている。

【0077】

固定台3の一対の凸部は、図16に示すように、支持部2の対向する一対の壁に内側から当接してユニットを固定する。

【0078】

本実施の形態におけるマイクロアレイ用基材は、固定台3を有することから、マイクロタイタープレート用の自動分注装置に適用し、生体物質の検出の自動化に適用することができる。このとき、例えば自動分注装置の作業区域を適宜設定すると、24対の凸部の全てにマイクロアレイ用基材を固定しなくても（例えば

中央に3つのマイクロアレイ用基材しか固定しなかったとしても）自動分注装置への適用が可能となり、検出目的や検出条件に合わせた無駄のない生体物質の検出を自動的に行うことができる。

【0079】

【実施例】

以下に本発明の実施例を示す。

本実施例で用いたマイクロアレイ用基材は、前記平板の一角部に、識別用のマークとして数字の「2」を表示した以外は、前記第一の実施の形態におけるマイクロアレイ用と同様に構成されている。このマイクロアレイ用基材は、透明なポリカーボネート製であり、試料固定部の底面の直径は約16mm、壁部の高さは約1mm、試料固定部の容量は約200マイクロリットル、下部から上部までの高さは14mmである。

【0080】

このマイクロアレイ用基材の試料固定部の底部に、インクジェット型マイクロアレイヤー Nano-Plotter Np1.2 (Gesim mbH社製) を用いて、 $10 \text{ pmol}/\mu\text{L}$ に調整したDNA溶液を計16点打ちつけた。DNA溶液が打ちつけられた状態のマイクロアレイ用基材の様子を図17に、打ちつけられたDNA溶液の種類とその配置を図18にそれぞれ示す。

【0081】

次に、底部に打ちつけたDNAの固定化操作を行い、DNAを固定したマイクロアレイ用基材を、3%BSAを含むbuffer A (0.1M Tris-HCl (pH 7.5)、0.2M NaCl、Triton X-100) に浸して振とうすることによりブロッキング操作を行い、ブロッキング操作を施したマイクロアレイ用基材をTEバッファー (10mM Tris (pH 8.0)、1 mM EDTA) で振とうすることにより洗浄した。

【0082】

次に、洗浄後のマイクロアレイ用基材を乾燥し、乾燥したマイクロアレイ用基材の試料固定部の底部にPCR産物を含有する溶液を $40 \mu\text{L}$ 展開した。このPCR産物は、DNA-1、5、6、10、及び11と相補的な部分を有し、末端

にピチオンが付加したものである。PCR産物を含有する溶液の展開は、マイクロアレイ用基材を軽く揺らして前記溶液を底部全体に行き渡らせることにより行った。

【0083】

ここで、本実施例で使用したDNA溶液中のDNA及びPCR産物について説明すると、PCR産物には、下記表1に示す配列番号5のDNAを用いて、PCR法により、下記表1に示す配列番号4のDNAと相補的な配列を有するλDNA断片を増幅したもの用いた。なお、得られた断片をアガロース電気泳動し、エチジウムプロマイド染色により検出した結果、その断片は約100bpの長さのものであった。図18中のDNA-1、5、6、10、及び11の位置には、配列番号4のDNAをスポットし、その他の位置には、下記表1に示す配列番号1、2、及び3のDNAの中から任意に選択したDNAをスポットした。

【0084】

【表1】

表1

配列番号	塩基配列	備考
配列番号1	cct gtt ctg act gcc gtt tc	
配列番号2	cct gtt ctg tct gcc gtt tc	
配列番号3	cct gtt ctg gct gcc gtt tc	
配列番号4	cct gtt ctg cct gcc gtt tc	
配列番号5	agg ctc aga ttc cac gaa gc	5'-ビオチン化

【0085】

次に、展開後のマイクロアレイ用基材を、蓋のできるプラスチック製密封容器に収容した。容器内には水で湿らせたペーパータオルを入れ、容器内部の温度を調節した。この容器を37℃の恒温器に入れて2時間静置することによりハイブリダイゼーションを行った。

【0086】

次に、前記容器からマイクロアレイ用基材を取り出し、2×SSCバッファー(10×SSC: 1.5M塩化ナトリウム、0.15Mクエン酸ナトリウム)に振とうすることにより、未反応のPCR産物等を除去した。

【0087】

次に、未反応物を除去したマイクロアレイ用基材に、ストレプトアビジンーピチオン化HRP (H o r s e R a d i s h P e r o x i d a s e) C o n j u g a t e (製造元：特殊免疫研究所) を展開し、30分間室温で反応させた。その後、マイクロアレイ用基材をT B S Tバッファー (20 mM Tris-HCl (pH 7.5)、150 mM NaCl、0.05% Tween 20) に浸して振とうした。

【0088】

次に、T M B S u b s t r a t e キット (フナコシ社製) を標準プロトコルどおりに調製し、マイクロアレイ用基材に展開して30分間静置した。その後、マイクロアレイ用基材を蒸留水に浸して発色反応を停止させた。

【0089】

前述した作業により、マイクロアレイ用基材の試料固定部に発色スポットが得られた。発色後のマイクロアレイ用基材の様子を図19に示す。

【0090】

【発明の効果】

本発明のマイクロアレイ用基材は、生体試料を複数箇所に固定できる平面状の底部及びこの底部の周縁に立設する壁部を少なくとも有する容器状の試料固定部と、底部が水平になるように試料固定部を所定の高さに支持する支持部とを有することから、マイクロアレイを用いる生体物質の検出に関する一連の作業を容易に行うことができ、かつ正確な検出結果を得ることができる。

【0091】

また本発明では、試料固定部は平板に形成された窪みであり、支持部は平板の周縁から下方に延出する周壁であり、平板が周壁の上縁で支持されていると、マイクロアレイを用いる生体物質の検出に関する一連の作業を容易に行い、かつ正確な検出結果を得る上でより一層効果的である。

【0092】

また本発明では、複数のマイクロアレイ用基材を上下に重ねたときにマクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方をマイクロアレイ

用基材の上部に有すると、非検査時に底部を保護し、生体物質の検出結果を保存する上でより一層効果的である。

【0093】

また本発明では、試料固定部及び支持部を1ユニットとしたときに、複数のユニットが連結部を介して水平方向に連結されて構成されると、生体物質の検出に関する一連の作業の自動化に適用する上でより一層効果的である。

【0094】

また本発明では、隣り合うユニットとの間に、一のユニットの試料固定部と他のユニットの試料固定部との間に溝を有すると、自動化において正確な検出結果を得る上でより一層効果的である。

【0095】

また本発明では、マイクロアレイ用基材の下部が嵌る凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を頂部に有する固定台に、凸部及び凹部のいずれか一方又は両方にマイクロアレイ用基材の下部が嵌ることにより固定されると、さらなる小型化や検出結果を保存する上でより一層効果的である。

【0096】

また本発明では、固定台は、複数のマイクロアレイ用基材を水平方向に配置可能に凸部及び凹部のいずれか一方又は両方を複数有すると、生体物質の検出の自動化において、検出条件に合った適切な検出を行う上でより一層効果的である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明における第一の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す平面図である

【図2】

図1に示すマイクロアレイ用基材の側面図である。

【図3】

図1に示すマイクロアレイ用基材に対して異なる形状の試料固定部を有する本発明のマイクロアレイ用基材の一例を示す断面図である。

【図4】

図1に示すマイクロアレイ用基材に対して異なる形状の試料固定部を有する本発明のマイクロアレイ用基材の他の例を示す断面図である。

【図5】

本発明における第二の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す斜視図である

【図6】

本発明における第三の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す斜視図である

【図7】

本発明における第四の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す斜視図である

【図8】

本発明における第五の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す平面図である

【図9】

図8に示すマイクロアレイ用基材の側面図である。

【図10】

本発明における第六の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す平面図である

【図11】

図10に示すマイクロアレイ用基材の側面図である。

【図12】

本発明における第七の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す平面図である

【図13】

図12に示すマイクロアレイ用基材の側面図である。

【図14】

本発明における第八の実施の形態のマイクロアレイ用基材を示す斜視図である

【図15】

本発明の第九の実施の形態で用いられる固定台の一例を示す斜視図である。

【図16】

本発明における第九の実施の形態のマイクロアレイ用基材の一部を拡大して示す断面図である。

【図17】

本発明の実施例におけるマイクロアレイ用基材にDNA溶液を打ちつけたときの状態を示す図である。

【図18】

本発明の実施例におけるマイクロアレイ用基材に打ちつけたDNA溶液の配置を示す図である。

【図19】

本発明の実施例におけるマイクロアレイ用基材を用いたDNAの検出結果を示す図である。

【符号の説明】

1 試料固定部

1 a 底部

1 b 壁部

1 c 凸部

1 d 切り欠き部

1 e 突条

2 支持部

2 a 第一の連結部材

2 b 第二の連結部材

2 c 第三の連結部材

2 d 第四の連結部材

3 固定台

【0097】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Nisshinbo Industries, Inc.

<120> マイクロアレイ用基材

<130> P-B0010

<140>

<141> 2002-07-11

<160> 5

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 1

cctgttctga ctgccgttc

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Synthetic DNA

<400> 2

cctgttctgt ctgccgttcc 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Synthetic DNA

<400> 3

cctgttctgg ctgccgttcc 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Synthetic DNA

<400> 4

cctgttctgc ctgccgttcc 20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

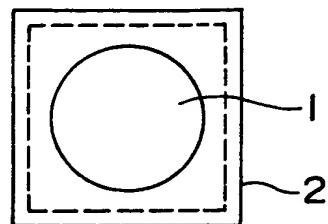
<400> 5

aggctcagat tccacgaagc

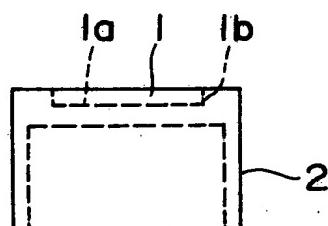
20

【書類名】 図面

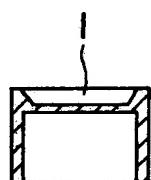
【図1】



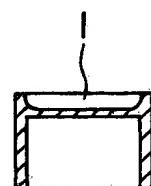
【図2】



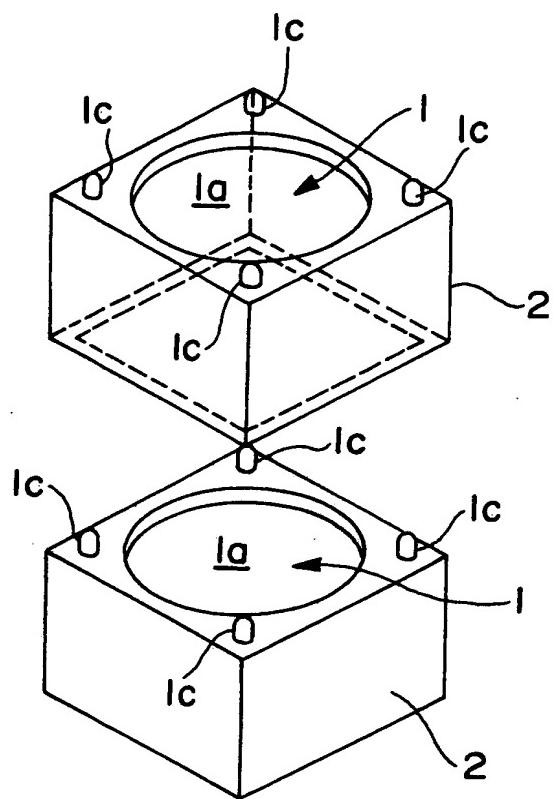
【図3】



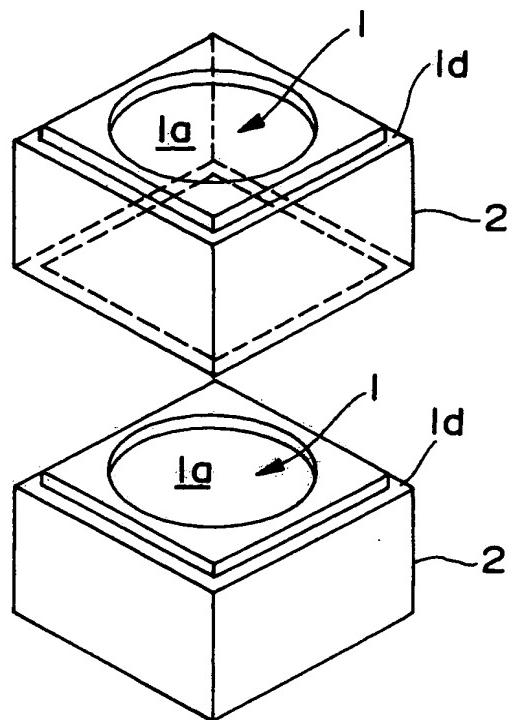
【図4】



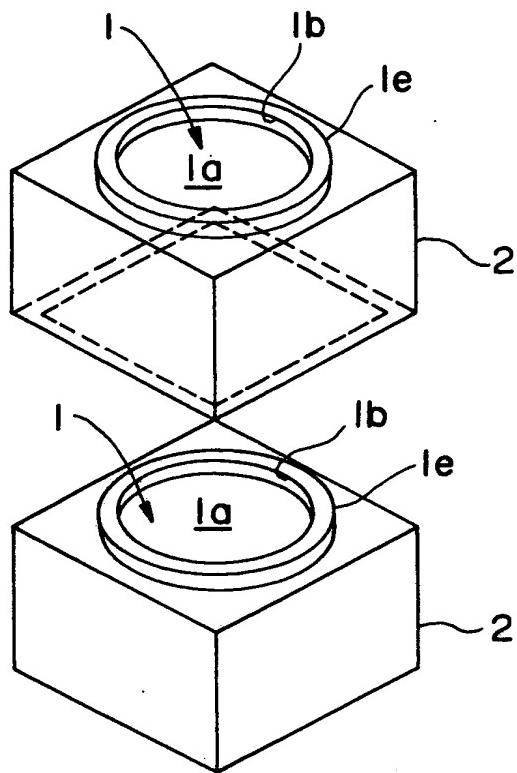
【図5】



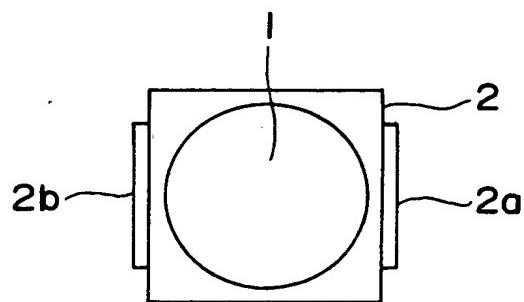
【図6】



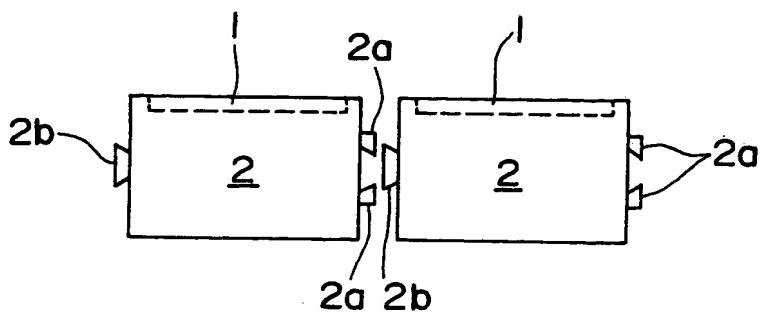
【図7】



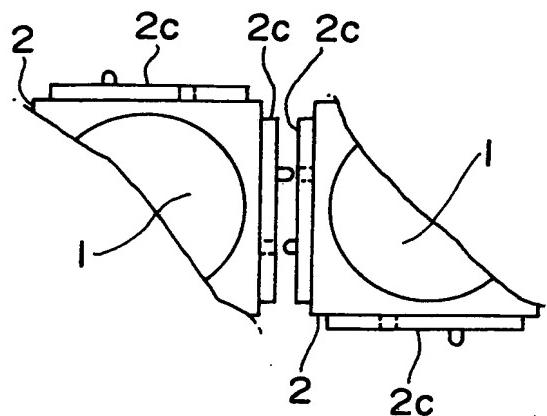
【図8】



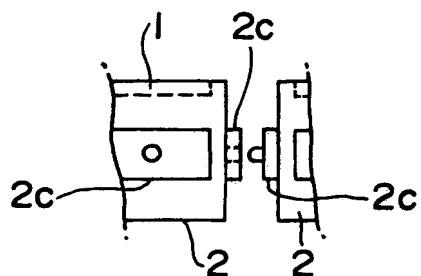
【図9】



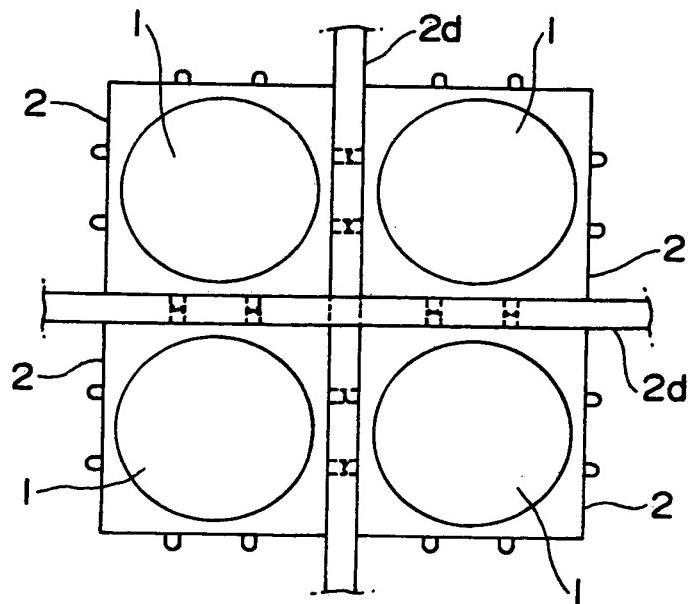
【図10】



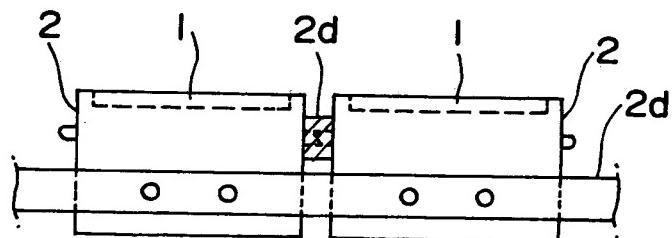
【図11】



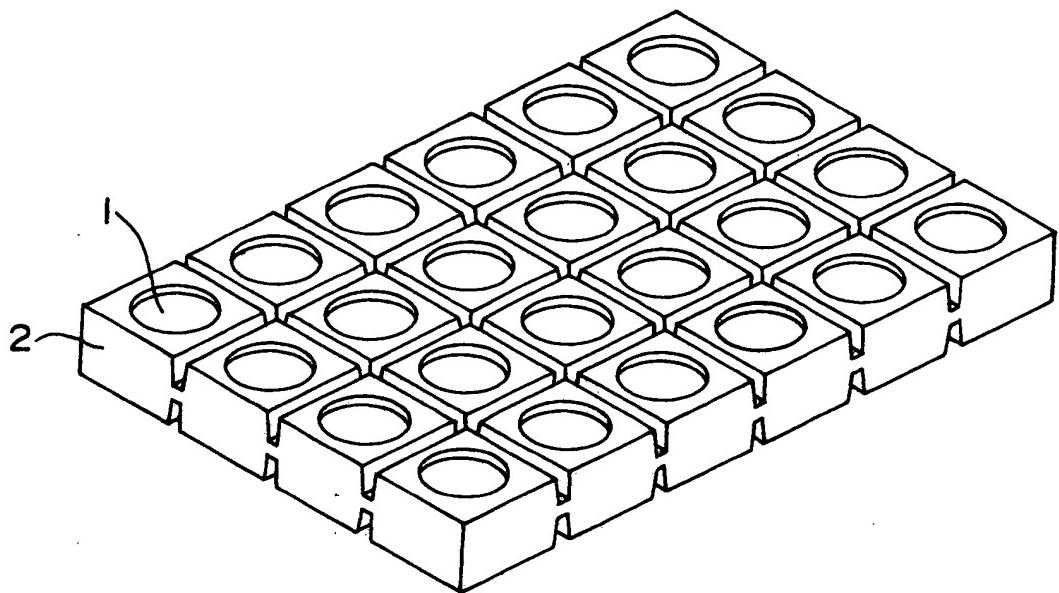
【図12】



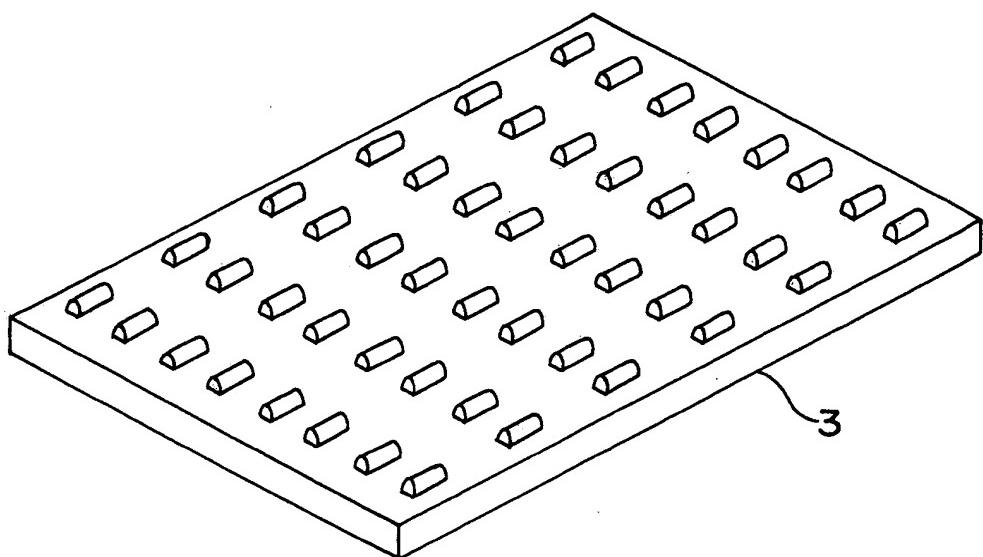
【図13】



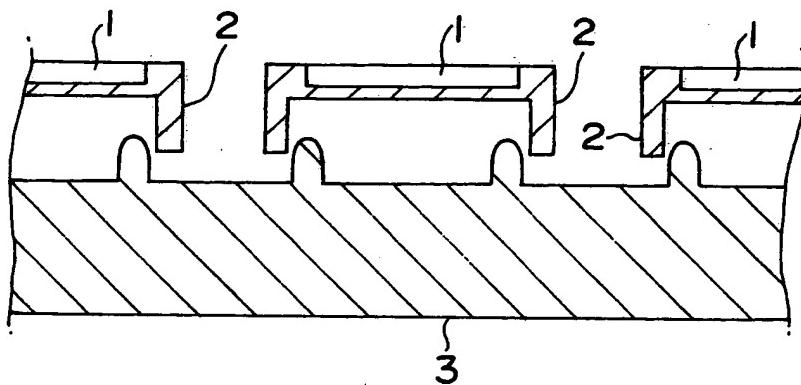
【図14】



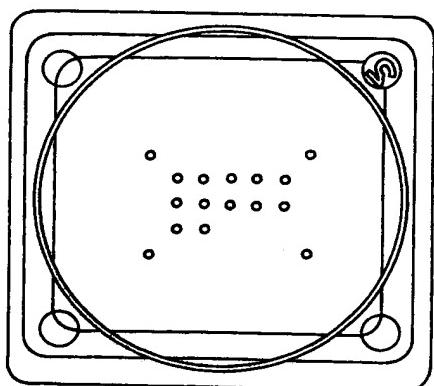
【図15】



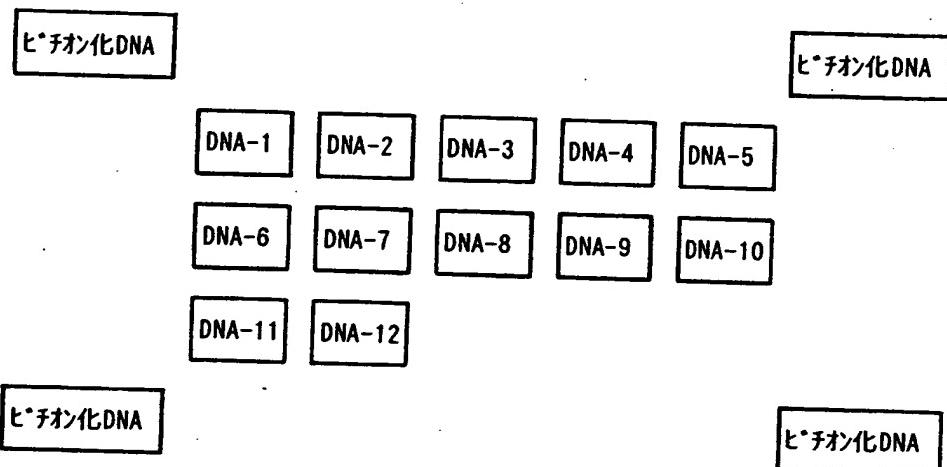
【図16】



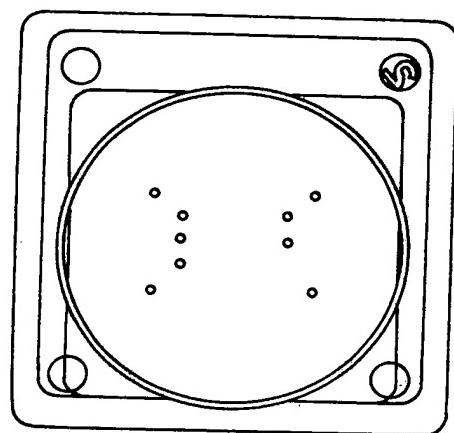
【図17】



【図18】



【図19】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 マイクロアレイを用いる生体物質の検出に関する一連の作業を容易に行うことができ、かつ正確な検出結果が得られ、さらには生体物質の検出に関する一連の作業の自動化に適用可能なマイクロアレイ用基材を提供する。

【解決手段】 生体試料を複数箇所に固定できる平面状の底部1a及びこの底部1aの周縁に立設する壁部1bを少なくとも有する容器状の試料固定部1と、底部1aが水平になるように試料固定部1を所定の高さに支持する支持部2とを有するマイクロアレイ用基材。

【選択図】 図2

出願人履歴情報

識別番号 [000004374]

1. 変更年月日 1993年 3月30日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都中央区日本橋人形町2丁目31番11号
氏 名 日清紡績株式会社